

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-235470

(P2001-235470A)

(43) 公開日 平成13年8月31日 (2001.8.31)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

テ-マコ-ト\* (参考)

G 0 1 N 33/53

G 0 1 N 33/53

S

A 6 1 K 49/00

A 6 1 K 49/00

Z

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願2000-44318(P2000-44318)

(22) 出願日 平成12年2月22日 (2000.2.22)

(71) 出願人 500073906

那波 宏之

新潟県新潟市西大畑町5214 3-201

(72) 発明者 那波 宏之

新潟県新潟市西大畑町5214 3-201

(72) 発明者 染矢 俊幸

新潟県新潟市五十嵐東2丁目1-28

(72) 発明者 浅間 弘恵

新潟県三条市西裏館2-13-14

(74) 代理人 100062144

弁理士 青山 葆 (外1名)

(54) 【発明の名称】 精神分裂病診断薬

(57) 【要約】

【課題】 精神分裂病の診断薬の提供。

【解決手段】 抗脳由来神経栄養因子抗体を有効成分とする精神分裂病診断薬であって、該抗体を用いて血清中の脳由来因子量を測定することによって、精神分裂病が診断される。

いて反応させ、調製することができる。

【0018】本発明方法は、また、精神分裂病薬の検定にも有用であり、例えば薬物投与患者の血清中のBDNF濃度を測定することによりその薬物の効果の有無が判定できる。従って、この検定方法を利用することにより精神分裂病治療薬のスクリーニングも行うことが可能である。このような方法で見出される精神分裂病治療薬には、非経口的または経口的に投与できる薬物が含まれる。その精神分裂病治療薬の正確な投与量および投与計画は、個々の治療対象毎の所要量、治療方法、疾病または必要性の程度、および、当然医師の判断による必要がある。非経口的投与する場合の投与量、投与回数は症状、年齢、体重、投与形態等によって異なるが、例えば注射剤として皮下または静脈に投与する場合、成人の患者の体重1kg、一日あたり約0.1mg〜約2500mgの範囲、好ましくは約1mg〜約500mgの範囲から投与量が選択され、例えば噴霧剤として気管に投与する場合、成人の患者の体重1kg、一日あたり約0.1mg〜約2500mgの範囲、好ましくは約1mg〜約500mgから選択される。投与計画としては、連日投与または間欠投与またはその組み合わせがある。経口的投与する場合の投与量、投与回数は症状、年齢、体重、投与形態等によって異なるが、例えば、成人の患者の体重1kg、一日あたり約0.5mg〜約2500mgの範囲、好ましくは約1mg〜約1000mgの範囲から投与量が選択される。

【0019】本発明の方法で得られる精神分裂病治療薬を薬学的に許容しうる非毒性の担体と混和することから成る医薬組成物を製造することができる。このような組成物を、非経口投与用(皮下注射、筋肉注射、または静脈注射)に調製する場合は、特に溶液剤形または懸濁剤形がよく、嚥または直腸投与用の場合は、特にクリームまたは坐薬のような半固形型剤形がよく、経鼻腔投与用の場合特に粉末、鼻用滴剤、またはエアロゾル剤形がよい。

【0020】組成物は一回量投与剤形で投与することができ、また例えばレミントンの製薬科学(マック・パブリッシング・カンパニー、イーストン、PA、1970年)に記載されているような製薬技術上よく知られているいずれかの方法によって調製できる。注射用製剤は医薬担体として、例えば、アルブミン等の血漿由来蛋白、グリシン等のアミノ酸、マンニトール等の糖を加えることができる。注射剤形で用いる場合には更に緩衝剤、溶解補助剤、等張剤等を添加することもできる。また、水溶液剤、凍結乾燥剤として使用する場合、凝集を防ぐためにTween 80(登録商標)、Tween 20(登録商標)などの界面活性剤を添加するのが好ましい。また注射用以外の非経口投与剤形は、蒸留水または生理食塩液、ポリエチレングリコールのようなポリアルキレングリコール、植物起源の油、水素化したナフタレン等を含有して

も良い。例えば坐薬のような嚥または直腸投与用の製剤は、一般的な賦形剤として例えばポリアルキレングリコール、ワセリン、カカオ油脂等を含有する。嚥用製剤では胆汁塩、エチレンジアミン塩、クエン酸塩等の吸収促進剤を含有しても良い。吸入用製剤は固体でもよく、賦形剤として例えばラクトースを含有してもよく、また経鼻腔滴剤は水または油溶液であってもよい。

【0021】

【実施例】以下、本発明を実施例にて説明する。ヒトより血液を採取後、通常の方法で血清を調製し、適当な緩衝液(50mM Tris, 0.5M NaCl, 0.2% Triton X-100, pH7.5, 1%ゼラチン、1%ウシアアルブミン・フラクシオンV等)で約100倍量に希釈する。このサンプルを抗BDNF抗体でコーティング(100ng/ウェル)された96穴プレートに添加する。定量用のスタンダードとして、BDNFを1-300pg/ウェルを添加したものを用いる。室温で終夜放置後、サンプルを抜き取りウェルを同上緩衝液で洗浄する。ビオチン化抗BDNF抗体(1-30ng/ml)を添加し、室温で終夜放置する。この二次抗体を除去し、ウェルを洗浄後、上記緩衝液で適当に希釈されたストربتアビジン-ガラクトシダーゼ(通常数百-数万倍)を添加し、室温で数時間放置する。この三次抗体を除去し、ウェルを洗浄後、ガラクトシダーゼの発色基質(200μM 4-メチルウンベリフェリル-β-D-ガラクトシド/50mM ナトリウム ホスフェート pH7.3, 10mM MgCl<sub>2</sub>等)を添加し、適切な標準曲線が引けそうな時間まで、発色させる。本発色基質のような蛍光基質の場合、蛍光プレートリーダーで364nmの励起光で448nmの蛍光強度を測定する。ひとつのサンプルにつき複数のウェルを使用し、検量線からサンプルのBDNF濃度を算出する。

結果

分裂病群とボランティア群において、ヒト新鮮血清中BDNFレベルをサンドイッチ法(two site ELISA法)にて測定した。BDNFレベルは、分裂病群で6.17ng/ml、S.D.3.65、ボランティア群で10.11ng/ml、S.D.7.11であった。この2群間で、血清BDNFレベルを比較したところ、分裂病群で有意(Student's t-test:  $p=0.0006$ )に低下していた。血清中のBDNFは血小板由来であることから血小板数が血清BDNFレベルに影響することが考えられた。そこで血小板数とBDNFレベルの関係を検討した。ボランティア群血清中のBDNFレベルと血小板数の間に正の相関が見られた(Spearman's correlation coefficient by rank test:  $R=0.49$ ,  $p<1\%$ )。一方で分裂病患者群でBDNFレベルと血小板数の関係をみたところ相関はみられなかった( $R=0.007$ ,  $p<1\%$ )。そこで血小板数の影響を補正するためにBDNFレベル/血小板数を算出し2群間の、血清BDNFレベ

ルを比較した。ボランティア群と分裂病群間でStudent's t-testを行ったところ、分裂病群で有意に低かった ( $p=0.027$ )。薬物による血清BDNFレベルへの影響をみるため、ハロペリドールを経口的に摂取したラットを作成した。そしてこのラットの血液とコントロー

ルのラットの血液を採取し、ヒト血清と同様にtwo site ELISA法にて血清中BDNFレベルを測定した。2群間で比較したところ有意な差を認めなかった ( $p<0.05$ )。